BEITRAG ZUR KENNTNISS

DER

ORCHIDEENWURZELPILZE.

Inaugural-Dissertation

der

mathematischen und naturwissenschaftlichen Facultät

der

Kaiser-Wilhelms-Universität Strassburg

zur Erlangung der Doctorwürde

vorgelegt von

ACAD. [illegible] BIBL.

Woldemar Wahrlich

aus Moskau.

Mit einer Tafel.

1886.

Seinen theuren Eltern

der Verfasser.

BEITRAG ZUR KENNTNISS DER ORCHIDEENWURZELPILZE.

Es gibt bekanntlich viele Pflanzen, die stets in Begleitung specifischer Pilze vorkommen, welche im Innern der Gewebe und Zellen jener leben, ohne den sie ernährenden Pflanzen merklichen Schaden zuzufügen. So z. B. beherbergt die Erle in ihrem Wurzelgewebe den Pilz *Schinzia Alni*; in den Wurzeln der Erbse, des Klee, *Lotus*, *Vicia* u. a. *Papilionaceen* finden wir die allerdings unklare »*Schinzia Papilionacearum*« etc. Zu solchen Pflanzen gehören sowohl die einheimischen als auch exotische *Orchideen*, welche stets von ein und denselben Pilzen bewohnt werden und allen Forschern, welche sich mit der Anatomie der *Orchideen*wurzeln und Rhizome beschäftigt haben, ist in den Zellen derselben der auffälligste Theil dieser Pilze, die später näher zu besprechenden gelben Klumpen aufgefallen, welche auf verschiedene Weise gedeutet worden sind.

Schleiden[1]) war der erste, der sie im Rhizom von *Neottia Nidus avis* Rich. fand. Er hielt sie anfangs für coagulirtes Protoplasma und die Hyphen des Pilzes, durch welche die Klumpen verbunden werden, für Verdickungen der Zellmembran; in späteren Jahren erkannte er sie allerdings als einem Pilze angehörige Gebilde.

Im Jahre 1846 hat Reissek[2]) den Pilz in *Gymnadenia viridis* Rich., *Platanthera bifolia* Rich., *Neottia Nidus avis* Rich., *Orchis Morio* und einigen anderen beobachtet. Reissek gibt auch eine Entwickelungsgeschichte der in Rede stehenden Klumpen, von denen er meint, dass sie sich aus den Cytoblasten (Zellkernen) der Parenchymzellen der Nährpflanzen entwickeln. Er kultivirte den Pilz von *Orchis Morio* und erhielt auch Fructificationsorgane in Form von länglichen, mehrzelligen Sporen[1]), infolge dessen er den Pilz *Fusisporium endorhizum* nannte.

Dann folgte die Untersuchung von Schacht[2]), der den Pilz ausser bei *Neottia Nidus avis* noch bei *Limodorum abortivum* Sw. und *Epipogon Gmelini* Rich. beobachtete; Fructification hat er ebenfalls gesehen. Er sagt (l. c. S. 382): »desgleichen entwickeln die Pilzfäden in den Nebenwurzeln des *Limodorum abortivum* Sw., freigelegt in feuchter Atmosphäre, eine Fructification, welche zum Theil einer *Eurotium*kugel entspricht, zum Theil aber auch mehrzellige, keulenförmige Sporen bildet.«

Später ist der Pilz noch von Prillieux[3]), Drude[4]), Reinke[5]), Eidam[6]) und schliesslich im Jahre 1884 von A. Mollberg[7]) beschrieben worden.

Drude und Reinke halten die gelben Klumpen, welche in den Zellen vorkommen, für Schleim, und Drude ist der Meinung, dass er dem Arabin nahezustellen ist. Reinke hält diesen Schleim für eine anatomische Eigenthümlichkeit der *Orchideen*wurzeln; Mollberg schliesst sich dieser Meinung an und sagt in seiner Arbeit (l. c. S. 531): »dass aber diese Schleimbildung nicht durch die Pilzfäden verursacht wird, geht schon daraus

---

1) Grundzüge der Botanik. 3. Aufl. I. p. 303.
2) Endophyten der Pflanzenzelle. Wien 1846.

1) l. c. Tab. II. Fig. VIII.
2) Monatsbericht der Berliner Akademie der Wissenschaften. 1854.
3) Annales des sciences naturelles. 1856.
4) Biologie von *Monotropa Hypopitys* L. u. *Neottia Nidus avis* Rich. Göttingen 1873.
5) Flora 1873. S. 145.
6) Jahresbericht der bot. Section d. schles. Ges. für vaterl. Kultur. 1879.
7) Jenaische Zeitschrift f. Naturwissensch. Bd. XVII. S. 519. Jena 1884.

hervor, dass manche mit reichlichem Schleim versehene Organe, wie die *Orchideen*knollen, mit Ausnahme ihrer verjüngten Theile, vollständig pilzfrei sind.« Bei *Epidendrum viscidum* und *Cephalanthera grandiflora* fand Mollberg eine Celluloseabscheidung sowohl um die gelben Klumpen, als auch um die von denselben ausgehenden Hyphen[1]). Ferner beschreibt Mollberg sehr genau die Einzelheiten der Verbreitung des Mycels in den Gewebeschichten der Wirthpflanzen, worauf ich hier nicht näher eingehen werde, da es Jeder, den es interessirt, in der oben angeführten Schrift nachlesen kann.

Fructification ist von den letztgenannten Forschern nicht beobachtet worden.

Es sei hier noch erwähnt, dass Mollberg bei *Platanthera bifolia* Rchb. und *Epipactis latifolia* All. locale Anschwellungen der Hyphen gesehen hat: »es waren intercalare und auch terminale knopfförmige, aber auch lange keulige Auftreibungen, die auf den ersten Blick wie beginnende Sporenbildungen aussahen. Diese Gebilde traten auch kettenförmig hinter einander auf, waren reicher an Protoplasma als der Fadentheil und besassen grosse Vacuolen. In der Kultur wuchsen sie wieder zu gewöhnlichen Fäden aus, ohne sich zu Reproductionsorganen auszubilden.«

Wir wollen jetzt zu meinen Untersuchungen übergehen, in denen ich folgende Fragen möglichst zu beantworten suchen werde:

1) Sind die oben erwähnten, gelben Klumpen wirklich Schleimballen und gehören sie dem Wurzelgewebe an, oder werden sie von dem in letzterem befindlichen Pilze gebildet?

2) Wie fructificirt der Wurzelparasit der *Orchideen* und kommt in allen *Orchideen*wurzeln derselbe Pilz vor, oder sind es verschiedene?

3) Wenn es ein Pilz oder resp. mehrere Pilze sind, die in den *Orchideen* parasitiren, zu welcher Gruppe oder resp. Gruppen sind sie zu rechnen?

Eigene Untersuchungen.

Von einheimischen *Orchideen* habe ich untersucht: *Orchis maculata* L., *Gymnadenia albida* Rich., *Platanthera bifolia* Rchb., *Ophrys muscifera* Huds., *Epipogon aphyllus* Sw., *Epipactis palustris* Crntz., *Serapias lingua*, *Goodyera repens* R. Br., *Corallorrhiza innata* R. Br. Von exotischen *Orchideen* habe ich in Moskau über 500 Arten untersucht. Alle diese *Orchideen* waren mehr oder weniger stark vom Pilze befallen.

Es wird aber nicht die ganze Wurzel vom Pilze bewohnt, sondern blos einzelne Stellen derselben, welche in den meisten Fällen schon mit dem blossen Auge an ihrer gelben Farbe erkennbar sind.

Die Farbe der inficirten Stellen rührt einestheils von den gelben Klumpen (einheimische *Orchideen*) her, anderntheils noch von den gelbgewordenen Chlorophyllkörnern (exotische *Orchideen*), im Falle es eine Luftwurzel ist.

Ehe wir zur Beschreibung des Pilzes übergehen, wollen wir uns den allgemeinen Aufbau der Wurzeln exotischer *Orchideen* in das Gedächtniss rufen; dieselben haben bekanntlich folgende Gewebeanordnung: Aussen ist eine aus mehreren Zellschichten bestehende Tracheidenhülle, deren Zellen meist schraubenförmig verdickte Membranen haben und mit Luft angefüllt sind; darauf folgt die Wurzelendodermis, welche aus einer Lage abwechselnd in der Längenwachsthumsrichtung der Wurzel langgestreckter und kurzer Zellen besteht; nach der Endodermis kommt das Rindenparenchym, in dem erstens Raphiden führende Schleimzellen und zweitens weitlumige, meist langgestreckte Zellen mit unregelmässig verdickten Membranen zerstreut sind; nach dem Parenchym schliesslich das Gefässbündel mit seiner Endodermis.

Uns beschäftigen die Tracheidenhülle, Wurzelendodermis und die mittleren Zelllagen des Parenchyms, da die übrigen Gewebe pilzfrei sind.

Wenn wir durch die inficirte Stelle der Wurzel einer exotischen *Orchidee*, z. B. *Vanda*, einen Längsschnitt machen, so sehen wir Folgendes. Die Tracheidenhülle wird durchzogen von braunen abgestorbenen Hyphen, die in Verbindung mit farblosen lebensfähigen stehen. Von letzteren entspringen Zweige, welche durch die kleinlumigen Zellen der Wurzelendodermis, nachdem sie sich daselbst mehrere Male gewunden haben, in das Rindenparenchym eindringen. Hier sind die äussersten 2—3 Zellreihen meist pilzfrei, mit Ausnahme der Zellen, durch welche der Pilz in das innere Gewebe dringt. In den darauf folgenden Reihen treffen wir ihn in Form obenerwähnter gelber Klumpen an, die durch Hyphen mit einander in Ver-

[1]) l. c. Tafel XI.

bindung stehen; auf diese Art wird dieser Theil des Rindenparenchyms von einem Hyphennetze durchsponnen, dessen Knoten sich im Innern der Zellen befinden und von den gelben Klumpen repräsentirt werden.

Nicht selten treffen wir auf Schnitten ausser den obenerwähnten gelben Klumpen in den Zellen der dritten und vierten (von aussen gerechnet) Parenchymschicht, zuweilen auch tiefer nach innen, ein stark entwickeltes Mycel an, welches die Zellen meist vollständig ausfüllt.

Die Raphiden führenden Schleimzellen und die an das Gefässbündel grenzenden 2—3 Zellschichten bleiben vollständig frei vom Pilze.

Was die Physiognomie des Pilzes in den Wurzeln einheimischer *Orchideen* anbetrifft, so ist sie im Wesentlichen dieselbe wie bei den exotischen und hinreichend genau von Mollberg beschrieben.

Aus der besprochenen Organisation des *Orchideen*pilzes treten uns die gelben Klumpen als räthselhafte Gebilde entgegen und wir wollen uns daher jetzt über ihre Eigenschaften Aufklärung zu verschaffen suchen.

Die gelben Klumpen sind stark lichtbrechend, von unregelmässiger Form und, wie schon oben erwähnt, stehen sie durch dünne Hyphen, welche nach allen Seiten von ihnen ausgehen, mit einander in Verbindung.

Gegen Säuren und Alkalien sind die gelben Klumpen sehr resistent. In concentrirter Schwefelsäure lösen sie sich erst nach Verlauf von einigen Tagen. Mit Kaliumhydroxyd behandelt, quellen sie nur unbedeutend; zur Illustration des Gesagten mag eine der Messungen, die ich gemacht, hier angeführt werden.

	Länge des Klumpens.	Breite.
In Alkohol	64 μ	40 μ
In Wasser	64 μ	40 μ
In KOH.	74 μ	50 μ
Nach Kochen in KOH	76 μ	54 μ

Zu den Messungen wurde Alkohol-Material von *Vanda*wurzeln gebraucht.

Mit Chlorzinkjod behandelt, färben sich die Klumpen violettblau bis blauschwarz; die Farbe variirt je nach ihrem Alter und je nach Gattung der *Orchideen*, so färben sie sich z. B. bei *Vanda suavis* violett; bei *Sobralia macrantha* blau bis blauschwarz, bei *Phajus maculatus* violettblau; dabei ist zu bemerken, dass die Farbe desto reiner ist, je jünger die Klumpen sind. Aus alten sieht man bei Behandlung mit dem erwähnten Reagens gelbe Tropfen hervortreten (Fig. 2). Durch Osmiumsäure werden die Klumpen dunkelbraun gefärbt (Fig. 3).

Die beiden letzten Erscheinungen lassen vermuthen, dass die Klumpen einen Stoff enthalten, welcher entweder Oel oder Harz ist.

Der fragliche Stoff kann aus ihnen erst durch Monate langes Liegen in Alkohol entfernt werden. In wässeriger Kaliumhydroxyd-Lösung wird er nicht gelöst, sondern nur durch Kochen in alkoholischer Lösung.

Die angeführten Reactionen bestätigen nicht die Meinung einiger oben erwähnter Forscher, dass die gelben Klumpen für das Wurzelgewebe der *Orchideen* specifische Schleimballen seien, denn wenn es wirklich Schleim[1]) wäre, so müssten die Klumpen bei Einwirkung von Kaliumhydroxyd-Lösung viel mehr aufquellen als die oben angeführte Messung es zeigt.

Die beschriebene Verbreitung der gelben Klumpen in den inficirten Theilen, die vollständige Abwesenheit derselben im übrigen Gewebe der Wurzel und dazu ihr Zusammenhang mit den Pilzfäden deuten eher darauf hin, dass die gelben Klumpen Organe des Parasiten sind. Um die Frage zu entscheiden, wenden wir uns jetzt zur Structur und Entwickelungsgeschichte dieser Körper.

Wenn man einen dünnen Schnitt aus dem inficirten Theile der Wurzel erst in alkoholischer Kaliumhydroxyd-Lösung kocht, dann mit Wasser auswäscht und schliesslich in Glycerin legt, so kann man sich bei stärkerer Vergrösserung überzeugen, dass die Klumpen im einfachsten Falle (die kleinen resp. jungen) verzweigte, oder auch nicht verzweigte Säcke sind, wie z. B. in Fig. 6 und 7 abgebildet ist. Dieselben haben deutlich doppeltcontourirte Membranen, welche direct in die Zweige und in die von letzteren entspringenden Hyphen übergehen. Die Säcke sind dabei mehr oder minder stark faltig.

Den anderen Fall stellen die grossen resp. alten Klumpen dar. Wenn man solch ein Präparat nach dem Auskochen in der alkoholischen Kaliumhydroxyd-Lösung mit Schwefelsäure behandelt, dann in Wasser auswäscht und zuletzt mit Chlorzinkjod färbt, so sieht man, dass die grossen Klumpen

---

[1]) W. Behrens, Hilfsbuch zur Ausführung mikroskopischer Untersuchungen. 1883. S. 311.

Hyphenknäuel sind; im Innern derselben bemerkt man aber intensiver gefärbte Körper (Fig 10), die ursprünglichen Säcke, welche mit der Zeit von den Pilzfäden umflochten werden.

Ohne jegliche vorhergehende Bearbeitung ist die Structur dieser Hyphenknäuel nicht zu ermitteln. Sie erscheinen als stark lichtbrechende, concentrisch geschichtete, einheitliche Masse (Fig. 9), was davon herrührt, dass die Knäuel von dem oben erwähnten, mit Osmiumsäure sich bräunenden Stoffe tingirt und die Pilzfäden durch ihn an einander gekittet sind. Daher glaube ich vermuthen zu dürfen, dass dieser in den Klumpen sich befindende Stoff Harz ist, da ähnliche Harzausscheidungen auf den Hyphen bei Pilzen nicht selten sind[1]).

Die Entwickelung der Klumpen liess sich leider nicht continuirlich an einem Objecte verfolgen, weil sie in Kulturflüssigkeiten nicht wuchsen; daher musste ich mich begnügen mit den Resultaten, welche ich durch Zusammenstellung verschiedener Stadien erlangt habe. Zu derartigen Untersuchungen eignen sich am besten Luftwurzeln, die erst kurze Zeit im Substrate, in dem sich die betreffenden *Orchideen* befinden, wachsen, da sie nur stellenweise vom Pilze inficirt sind und man Infectionen augenscheinlich verschiedenen Alters an einer Wurzel antreffen kann. Auf Präparaten aus solchen Wurzeln sieht man, dass die Hyphen, sowie sie die ersten 2—3 Schichten des Rindenparenchyms passirt haben (zuweilen auch schon in den Zellen der zweiten Schicht Fig. 1) und in die nächstfolgenden Zellen eingetreten sind, an ihren Enden blasig anschwellen (Fig. 4—7) und eine Art Haustorien bilden, welche an Umfang zunehmen, und neue Hyphen in die benachbarten Zellen senden, wo sich derselbe Vorgang wiederholt. Einzelne Hyphen können auch zurückbleiben und das Haustorium, aus welchem sie entsprungen, mehrere Male umwinden, dann eventuell in die nächste Zelle dringen, wo sie im Falle, dass ein Haustorium schon vorhanden ist, dasselbe umschlingen. Es kommt auch vor, dass mehrere Hyphen, die in die Zelle eingedrungen sind, Anschwellungen bilden (*Sobralia*), diese verschmelzen dann an ihren Berührungsstellen und liefern in dem Falle Bilder wie Fig. 8.

[1]) A. de Bary, Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze etc. 1884. S. 11.

Wie ich schon erwähnt habe, kommt in älteren Stadien ausser dem Hyphennetze mit den gelben Klumpen noch ein stark entwickeltes, protoplasmareiches Mycel vor. Dasselbe ist zum Theil eine Neubildung der die Haustorien umwindenden Hyphen, zum Theil entsteht es infolge weiterer Vegetation der aus der Tracheidenhülle kommenden Pilzfäden.

Es sei hier noch erwähnt, dass dieses Mycel je nach Species der *Orchideen* mehr oder minder sich unterscheidet, z. B. in *Vanda*wurzeln sind die Hyphen sehr dick (2—2,2 μ), bei *Phajus* (1—1,5 μ) und anderen *Orchideen* hingegen bedeutend dünner.

Schnallenbildungen an den Hyphen habe ich ausser bei *Corallorrhiza innata* R. Br. noch bei *Epipogon aphyllus* Sw. gesehen.

Die Fructification des *Orchideen*pilzes habe ich bei *Platanthera bifolia*, *Vanda suavis*, *V. tricolor* und *V. furva* studirt, indem ich dünne Schnitte der entsprechenden Wurzeln in verdünnten Traubensaft legte und so das in ihnen befindliche Mycel kultivirte, wobei die Kulturen auf Objectträgern und ohne Deckgläser angestellt, unter eine feuchte Glocke gebracht wurden. Diese Versuche habe ich oft wiederholt in zwei weit von einander entfernten Lokalen und fast immer mit dem gleichen Erfolge. Die Kulturen wurden dabei der Genauigkeit wegen mehrere Mal am Tage controlirt.

Mit diesem Verfahren habe ich folgende Resultate erlangt:

Platanthera bifolia. Das Mycel wächst anfangs sehr stark und die Hyphen conjugiren mit einander an ihren Berührungsstellen. Nach zwei, drei Tagen wird das Wachsen relativ langsam, die Enden der Hyphen treten aus der Kulturflüssigkeit heraus, nehmen gegen den Objectträger eine mehr oder minder verticale Stellung an und fangen an ihren Spitzen an Sporen abzuschnüren. Diese Sporen sind cylindrischer Form, mit abgerundeten Enden, 20—30 μ lang und 3,3—4,4 μ breit, im ausgebildeten Zustande meist vierzellig (Fig. 12 und 16), dabei zartwandig und farblos. Sie bilden an den Spitzen der Träger Köpfchen, welche aus mehreren mit ihren Seiten an einander geklebten Sporen bestehen (Fig. 11) und dadurch zu Stande kommen, dass, nachdem die erste Spore abgeschnürt worden ist und eine beträchtliche Länge erreicht hat, der Träger an der Seite der abgeschnürten Spore emporwächst und an der Basis der-

selben durch eine Querwand eine neue Spore abschnürt. Die erste löst sich während dieses Vorganges vom Fruchtträger ab und bleibt an der Seite der neugebildeten hängen u. s. w. (Fig. 15). Die ursprünglich einzelligen Sporen theilen sich nachdem durch Querwände in drei bis vier Zellen.

Diese Art der Fructification war, wie wir gesehen, schon von Schacht und Reissek (l. c.) beobachtet worden und letzterer benannte den Pilz infolge seiner Fructification *Fusisporium endorhizum*. Ich will daher auch fernerhin diese Sporen *Fusisporium*-sporen nennen. A. de Bary bezeichnet sie in seiner »Vergleichenden Morphologie der Pilze«[1]) mit dem Namen Microgonidien zum Unterschiede von den anderen, gleich zu beschreibenden Sporen, die er Megalogonidien nennt.

Nachdem das Mycel eine Zeit lang die eben beschriebenen *Fusisporium*sporen producirt hat, fängt es an die Megalosporen zu bilden. Dieselben haben braune, derbe Membranen, enthalten viel Fett und sind »1—3zellig« (selten mehr; Fig. 13, 18—21); doch entstehen die Zellen nicht durch nachträgliche Theilung einer ursprünglichen Spore, wie es bei den *Fusisporium*sporen der Fall ist, sondern sie werden von der Hyphe aus successive nach einander abgegliedert (Fig. 13, 18). Die Grösse der einzelnen Zellen ist sehr variabel, als Mittelgrösse kann man 8—10 μ, wie für die Länge, so auch für die Breite annehmen. Diese Sporen sind höchst wahrscheinlich Dauersporen, erstens ihrer derben Membran wegen und zweitens, weil sie meist dann gebildet werden, wenn das Mycel ziemlich erschöpft ist.

Die Keimung der *Fusisporium*sporen erfolgt sobald sie in eine Nährflüssigkeit kommen, schon nach ein paar Stunden. Wenn hinreichend Nahrung vorhanden ist, bilden sie ein reichverzweigtes Mycel, welches wieder beide Arten von Sporen entwickelt; hingegen in reines Wasser gebracht, treiben sie kurze Promycelschläuche, an deren Spitzen sich Megalosporen bilden (Fig. 13), in beiden Fällen können die *Fusisporium*sporen vorher noch durch kurze Seitenzweige mit einander conjugiren (Fig. 13).

Vanda. Von den drei untersuchten Species ging bei zweien (*V. suavis* und *V. furva*) die Abschnürung der *Fusisporium*sporen genau so vor sich, wie wir bei *Platanthera bifolia* gesehen haben; sie bildeten auch solche Köpfchen, aus mehreren mit den Seiten an einander geklebten und mit der Basis (mit Ausnahme der jüngsten) vom Träger losgelösten Sporen bestehend (Fig. 14). Bei der dritten Art (*V. tricolor*) dagegen waren die Sporen mit ihren Seiten frei, mit der Basis aber auf der Spitze des Trägers aufsitzend (Fig. 17), was dadurch zu Stande kam, dass, nachdem sich eine Spore abgeschnürt hatte, sich dicht neben der Insertionsstelle eine neue Anschwellung bildete, aus der wieder eine Spore entstand, welche die vorhergehende zur Seite drängte u. s. w.[1]); dabei waren die Träger viel kürzer als bei den vorher besprochenen Arten und traten nur unbedeutend aus der Kulturflüssigkeit heraus. Die Grösse der *Fusisporium*sporen (Fig. 16) ist bei denen der untersuchten *Vanda*species dieselbe, wie bei jenen von *Platanthera*.

Megalosporen werden bei *Vanda* ebenfalls gebildet und sind bei den drei untersuchten Arten von derselben Form und Grösse, wie bei *Platanthera*.

Auch habe ich Megalosporen in den Zellen der Tracheidenhülle von *Vanda*- und *Phajus*-wurzeln (Fig. 21) beobachtet, ohne den Pilz vorher in einer Kulturflüssigkeit gezogen zu haben. Jedoch sind diese Fälle relativ selten.

Ausser den beschriebenen Kulturen im Kleinen habe ich noch Massenkulturen unternommen, um zu sehen, ob der Pilz nicht Perithecien bilden werde; da Schacht in seiner Arbeit (l. c.) angibt, dass er auf Wurzeln von *Limodorum abortivum*, die in feuchte Atmosphäre gelegt waren, eine Fructification, welche zum Theil *Eurotium*kugeln entsprach, beobachtet hat. Denselben Versuch habe ich mit *Vanda* gemacht; ich nahm dazu Wurzeln von drei Species, die aus verschiedenen Gegenden bezogen waren, nämlich *Vanda tricolor* aus Moskau, *V. suavis* aus Berlin und *V. furva* aus dem Strassburger botanischen Garten. Die Wurzeln wurden mit ausgekochtem Wasser ordentlich rein gewaschen, unter feuchte Glocken gebracht und der grösseren Isolirung wegen in drei von einander abgelegene Lokale gestellt. Nach einiger Zeit (ungefähr einer Woche) wurden sie stellenweise von einem zarten, dünnen Mycel überzogen, das nach beschriebener Weise *Fusi-*

[1]) l. c. p. 270.

[1]) de Bary bildet eine ähnliche Art von Gonidienabschnürung bei *Dactylium* ab. l. c. p. 69, Fig. 31.

*sporium*sporen entwickelte, welche sowohl ihrer Entstehung nach, als nach Form und Grösse den jeder *Vanda*species entprechenden in Traubensaft gezogenen Sporen vollständig gleichkamen. Auf altem Mycel waren auch Megalosporen entwickelt, welche sich von den oben beschriebenen durchaus nicht unterschieden.

Darnach entwickelten sich Stilben, welche bis $1^1/_2$ Mm. hoch wurden und von der Gestalt der Gonidienträger von *Sphaerostilbe* [1]) waren; ihre Sporen sind 4 μ lang und 2 μ breit. Ich konnte aber nicht genau bestimmen, ob diese Stilben dem *Orchideen*pilze gehören oder eventuell Fruchtträger eines anderen Pilzes sind, dessen Sporen zufällig beim Oeffnen der Glocken daraufgekommen waren; da aus den Stilbosporen blos wieder Stilben wuchsen und keine anderen Fructificationsorgane, zumal nicht *Fusisporium*sporen.

Ungefähr einen Monat, nachdem die Kulturen angestellt worden waren, wuchsen auf den Wurzeln von *Vanda suavis* und *V. tricolor* Perithecien (Fig. 22 u. 23); dieselben waren, wie schon die Figuren zeigen, bei beiden *Vanda*species verschieden. Die Perithecien auf *V. suavis* (Fig. 23) sind mehr birnfömig, lebhaft roth gefärbt, haben eine dicke Rinde und ein weisses papillenförmiges Ostiolum; die auf *V. tricolor* (Fig. 22) dagegen sind eiförmig, intensiver gefärbt, dabei verhältnissmässig breiter als die vorigen, mit fast um die Hälfte dünnerer Rinde und ohne die weisse Papille, die rothen Zellen der Rinde gehen vielmehr auch über die Spitze des Peritheciums und werden da von einem Kanale durchbrochen. Auch zwischen den Ascosporen (Fig. 24 *B* und 25) dieser beiden Arten sind einige Differenzen vorhanden; die auf *V. suavis* wachsenden Perithecien haben kleinere, 8-10 μ lange und $4^1/_2$ μ breite, fast farblose Sporen (Fig. 24), dagegen sind die Sporen der anderen, auf *V. tricolor* wachsenden Art schwach bräunlich, 12—15 μ lang und 4—5 μ breit (Fig. 25).

Auf Quer- und Längsschnitten durch die Stellen der Wurzeln, wo die Perithecien sassen, hat sich herausgestellt, dass die Tracheidenhülle vollständig vom Mycel durchwuchert und die Hyphen zu einer Art Stroma verflochten waren, dabei gingen ganze Büschel von Hyphen durch die kleinlumigen Endodermzellen in das Innere der Wurzel hinein, und an einigen Stellen war zu sehen, dass die Pilzfäden mit den Haustorien und Hyphenknäueln des innern Mycels communicirten. Die Perithecien werden, so lange die Tracheidenhülle noch nicht völlig zerstört ist, in den Zellen der äussersten Schichten angelegt, aus denen sie später, wenn sie grösser geworden sind, hervorbrechen.

Um mich zu überzeugen, dass diese Perithecien wirklich den *Orchideen*pilzen angehören, habe ich Ascosporen-Aussaaten gemacht. Diese Sporen keimten sehr bald (Fig. 17 und 24) und entwickelten auf ihrem Mycel wieder *Fusisporium*- (Fig. 14 und 17) und Megalosporen, welche mit denen auf dem Mycel aus den Wurzeln der entsprechenden *Vanda*species in Traubensaft gezogenen in Allem übereinstimmten.

Auf den Wurzeln von *Vanda furva*, der dritten in Untersuchung gezogenen Species waren keine Perithecien gewachsen, was wahrscheinlich mit unzureichender Ernährung des Mycels zusammenhing, da diese Wurzeln sehr schmächtig waren. *Fusisporium*- und Megalosporen haben sich hingegen auch hier entwickelt, dabei waren die *Fusisporium*sporen hier wie bei *Vanda suavis* auf langen Trägern zu Köpfchen angereiht (Fig. 15).

Ausser den beschriebenen Formen im Entwickelungskreise unseres Pilzes findet man noch (wenn die Wurzel zu faulen beginnt) in den Zellen der Tracheidenhülle Pilzfäden mit kurzen, stark angeschwollenen, fast kugeligen Gliedern. Diese Hyphen haben ein perlschnurartiges Aussehen wie Fig. 26 zeigt.

Eben solche Glieder hat auch, wie oben angeführt, Mollberg bei *Platanthera* und *Epipactis* beobachtet. Ich habe sie ausser bei *Vanda* noch bei *Cymbidium aloifolium* gefunden (Fig. 27).

Die einzelnen Glieder sind reich an Protoplasma, enthalten auch zuweilen Vacuolen, ihre anfangs farblose Membran nimmt späterhin eine bräunliche Farbe an. Einzelne Zellen der Tracheidenhülle werden von diesen Hyphen ganz ausgefüllt, was sich nicht selten auf ganze Partien dieser Zellen erstreckt.

In Nährflüssigkeit gebracht, keimen die einzelnen Glieder und bilden ein gewöhnliches Mycel. Gelegentlich konnte ich dabei auch *Fusisporium*sporen beobachten; es war mir aber nicht möglich, zu entscheiden, wel-

[1]) G. Winter, Pilze (Rabenhorst's Kryptogamen-Flora) Bd. I, 2. Abth. S. 87, *Sphaerostilbe*, Fig. 1.

cher Art von Hyphen dieselben entstammten; ob denjenigen, welche aus den kugeligen Anschwellungen entspringen, oder denjenigen, welche die letzteren erzeugen, da es mir nicht gelungen ist, solche Gliederketten rein heraus zu präpariren. Dass aber diese Ketten unserem Pilze angehören, ist unzweifelhaft, weil sie im directen Zusammenhange mit seinem Mycel stehen.

Die Bedeutung der kugeligen Anschwellungen ist mir unbekannt, ich glaube aber annehmen zu dürfen, dass das eine Art Dauerzustand ist.

Infectionsversuche habe ich auch unternommen, doch misslangen dieselben. Die ausgesäten Sporen keimten entweder gar nicht oder, wenn sie keimten, so entwickelten sie ein sehr schwaches Mycel, welches in den meisten Fällen gar nicht in die Tracheidenhülle eindrang. Zu den Infectionen habe ich junge Luftwurzeln (*Oncidium* und *Vanda*) genommen, weil dieselben, so lange sie noch nicht mit dem Substrat in Berührung gekommen sind, vollständig pilzfrei sind. Die zu diesen Versuchen gebrauchten Sporen waren *Fusisporium*sporen, Ascosporen und Stilbosporen.

Schlussfolgerungen.

Die angeführten Eigenthümlichkeiten der Organisation und der Entwickelung des *Orchideen*pilzes gestatten uns, bei all den Unvollkommenheiten meiner Untersuchungen, die oben gestellten Fragen folgendermaassen zu beantworten:

Die gelben Klumpen, die sich im Wurzelparenchym der *Orchideen* befinden, sind keine Schleimballen, gehören auch nicht dem Wurzelgewebe, sondern den *Orchideen*pilzen an und sind echte, später von Hyphen umsponnene Haustorien.

Fructificationsorgane des Wurzelparasiten der *Orchideen* sind *Fusisporium*sporen, Megalosporen und die bei *V. suavis* und *V. tricolor* beobachteten Perithecien mit Ascosporen. Die Unterschiede in der Dicke der Hyphen, in dem Verhalten der Haustorien gegen Chlorzinkjod und einige Abweichungen in der Art des Fructificirens geben Grund anzunehmen, dass in den *Orchideen* verschiedene Pilzarten parasitiren; doch deutet die Aehnlichkeit in Organisation und in den Fructificationsorganen, welche ich bei drei exotischen (*V. suavis*, *tricolor*, *furva*) und bei einer einheimischen *Orchidee* (*Platanthera bifolia*) beobachtet habe, darauf hin, dass die in den *Orchideen*wurzeln parasitirenden Pilze zu ein und derselben Gruppe gehören.

Nach seinen Fructificationsorganen ist der Pilz als ein *Pyrenomycet* zu bezeichnen. Die Perithecien des in *Vanda*wurzeln vegetirenden Pilzes sind lebhaft roth gefärbt und sitzen einzeln oder in kleinen Gruppen von 3—5 (selten mehr) angeordnet, auf einem ziemlich stark entwickelten, rothbraunen Stroma, welches aber selten aus der Tracheidenhülle hervortritt, im Falle es aber letztere durchbricht, so besteht es aus einem starken, compacten Hyphengeflecht. Die Asci enthalten je acht schräg-einreihig angeordnete Sporen. Die Sporen sind elliptisch, zweizellig, in der Mitte schwach eingeschnürt. Auf Grund dieser Merkmale sind die in *Vanda*wurzeln parasitirenden Pilze als *Nectria*arten zu bezeichnen und ich erlaube mir für die beiden untersuchten Species folgende Namen vorzuschlagen:

1) *Nectria Vandae*, Perithecien roth, birnförmig (Fig. 23), mit ziemlich dicker, aussen stark schuppiger, am Ostiolum weisser Wand; Ascosporen elliptisch, 8—10 μ lang und 4,4 μ breit, farblos; *Fusisporium*sporen cylindrischer Form mit abgerundeten Enden, 20—30 μ lang und 3,3—4,4 μ breit, auf langen Trägern zu Köpfchen angereiht (Fig. 14). Auf *Vanda suavis*.

2) *Nectria Goroshankiniana*, Perithecien intensiv roth, eiförmig (Fig. 22), mit verhältnissmässig dünner, aussen schwach schuppiger, überall gleichmässig gefärbter Wand; Ascosporen länglich-lanzettlich, 12—15 μ lang, 4—5 μ breit, schwach bräunlich; *Fusisporium*sporen von derselben Gestalt und Grösse wie bei *Nectria Vandae*, sie sitzen mit ihren Basalenden auf den Spitzen sehr kurzer Träger büschelförmig neben einander und sind dabei mit ihren Seiten vollständig frei. Auf *Vanda tricolor*.

Strassburg i/E., August 1885.

Erklärung der Abbildungen.

(Die eingeklammerten Ziffern geben die Vergrösserung an.)

Fig. 1 (150). *Sobralia macrantha.* Längsschnitt durch eine inficirte Stelle der Wurzel. *tr* Tracheidenhülle, *en* Wurzelendodermis.

Fig. 2 (480). *Phajus maculatus.* Alter Klumpen mit Chlorzinkjod behandelt. Das Harz ist in Form (gelber) Tropfen herausgetreten.

Fig. 3 (480). *Phajus maculatus.* Mit Osmiumsäure behandelt.

Fig. 4 (480). *Cypripedium insigne.* Junges Haustorium ohne jegliche Behandlung mit Reagentien; daneben der Zellkern.

Fig. 5 (480). *Phajus maculatus.* Junges Haustorium ohne jegliche Behandlung mit Reagentien.

Fig. 6 (1000). *Vanda tricolor.* Verzweigtes Haustorium nach dem beschriebenen Auskochen in alkoholischer Kaliumhydroxyd-Lösung. Membran deutlich doppeltcontourirt.

Fig. 7 (950). *Sobralia macrantha.* Haustorium.

Fig. 8 (650). *Sobralia macrantha.* Mehrere mit einander verbundene Haustorien in einer Zelle.

Fig. 9 (480). *Cypripedium insigne.* Die gelben Klumpen ohne vorhergehende Behandlung mit Reagentien. *k* Zellkern.

Fig. 10 (950). *Vanda furva.* Eben solch ein Klumpen nach dem Auskochen in alkoholischer Kaliumhydroxyd-Lösung mit H_2SO_4 behandelt. Der dunkle Körper in der Mitte ist das Haustorium.

Fig. 11 (650). *Fusisporium*sporen des in *Platanthera bifolia* parasitirenden Pilzes auf ihren langen Trägern (*tr*) in die Luft ragend.

Fig. 12 (650). Dieselben keimend.

Fig. 13 (650). Dieselben in Wasser gekeimt. Bei *c* haben sie sich conjugirt und bei *m* tragen sie auf ihren Promycelschläuchen Megalosporen. Bei *a* ist die letzte Zelle der Megalospore vor Kurzem erst abgeschnürt.

Fig. 14 (650). *Fusisporium*sporen von *Nectria Vandae* (*Vanda suavis*), auf dem aus Ascosporen gezogenen Mycel gewachsen; in die Luft ragend.

Fig. 15 (650). *Fusisporium*sporen des in *Vanda furva* parasitirenden Pilzes. In Wasser beobachtet. Auf dem Träger wird eine neue Spore gebildet.

Fig. 16 (650). Dieselben; eine im Keimen begriffen.

Fig. 17 (480). *Nectria Goroshankiniana* (*Vanda tricolor*). Eine ausgekeimte Ascospore (*a*); bei *f Fusisporium*sporen bildend.

Fig. 18 u. 19 (650). Megalosporen des in *Platanthera bifolia* vegetirenden Pilzes. Bei *a* (Fig. 18) ist die zweite Zelle der Spore im Begriff, sich abzuschnüren.

Fig. 20 (650). *Nectria Vandae* und Megalosporen auf dem aus *Fusisporium*sporen gezogenen Mycel gewachsen.

Fig. 21 (650). Megalosporen aus den Zellen der Tracheidenhülle einer Wurzel von *Phajus maculatus.* Glycerinpräparat.

Fig. 22 (75). *Nectria Goroshankiniana.* Perithecium.

Fig. 23 (75). *Nectria Vandae.* Zwei Perithecien. *P* Papillenförmige Ostiola.

Fig. 24 (650). *Nectria Vandae. A* keimende, *B* ruhende Ascosporen derselben Species.

Fig. 25 (650). *Nectria Goroshankiniana.* Ascosporen.

Fig. 26 (650). Hyphe mit angeschwollenen Gliedern aus einer Zelle der Tracheidenhülle einer *Vanda*-wurzel.

Fig. 27 (650). Dasselbe aus einer Wurzel von *Cymbidium aloifolium.*

Curriculum vitae.

Geboren wurde ich Woldemar Wahrlich den 29. Juni 1859 zu Tobolsk (Asiatisches Russland) als Sohn des Provisors, Titulärrath Carl Wahrlich und seiner inzwischen verstorbenen Ehefrau Julie geb. Lorentz. Meinen ersten Unterricht genoss ich im elterlichen Hause; im August 1871 trat ich in das Gymnasium zu Dorpat ein und verblieb daselbst bis zum December 1874. Darauf trat ich in Moskau in eine Apotheke als Lehrling ein. Im April 1877 bestand ich summa cum laude das Apothekergehülfen-Examen und bezog die Kaiserliche Moskauer Universität, wo ich 4 Semester Medicin und Pharmacie studirte; im Jahre 1879 wurde ich Assistent am botanischen Institut und Garten, welches Amt ich 2 Jahre bekleidete. Seit October 1884 studirte ich an der Kaiser-Wilhelms-Universität Strassburg.

Meine Lehrer waren die Herren Professoren und Docenten:

Goroshankin, Bogdanow, Tolstopiatow, Borsenkow, Sernow, Ssabanejew, Buliginski, Giwartowski, Ssokolowski, Scheremetjewski, Tscherenow, Klein, Neuding, Bogoslowski, Liubimow in Moskau;

De Bary, O. Schmidt und Wortmann in Strassburg.

Ausser diesen Herren noch Mag. Bot. A. Petrowski in Jaroslaw, wo ich mich eine Zeit lang aufhielt.

Allen diesen meinen verehrten Lehrern erlaube ich mir hiermit meinen wärmsten Dank auszusprechen, insbesondere aber fühle ich mich verpflichtet, den Herren Professoren A. de Bary und J. Goroshankin für ihre Belehrungen und ihren Beistand in meinen Studien zu danken.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.

W. Wahrlich ad nat. del.

C. F. Schmidt lith.